

BB

# Apparatus focusing ultrasound precisely into suspended cells or tissue in micro titration plate for e.g. agitation or disintegration

**Publication number:** DE19820466

**Publication date:** 1999-11-18

**Inventor:** HAHN THOMAS (DE); KLEFFNER BERNHARD (DE);  
RUF HANS (DE)

**Applicant:** FRAUNHOFER GES FORSCHUNG (DE)

**Classification:**

- international: **C12M1/42; C12N13/00; C12M1/42; C12N13/00;** (IPC1-7): G01N1/28; B06B1/06; B06B3/00; G01N33/50; G10K11/18

- European: C12M1/42; C12N13/00

**Application number:** DE19981020466 19980507

**Priority number(s):** DE19981020466 19980507

**Also published as:**



WO9958637 (A3)

WO9958637 (A2)

EP1075507 (A3)

EP1075507 (A2)

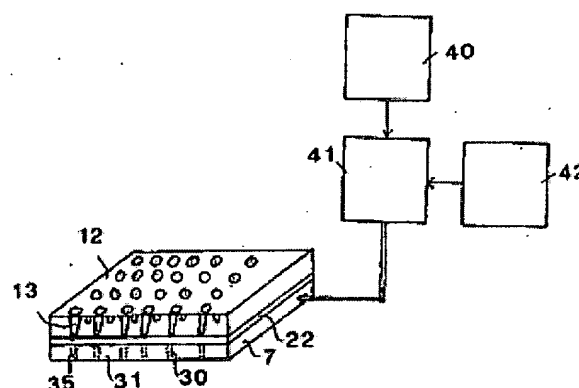
US6699711 (B1)

more >>

**Report a data error here**

## Abstract of DE19820466

The electroacoustic transducer (7) couples sound waves into the sample vessel (13) through the wall from the outside. An Independent claim is included for the method in which numbers of samples are irradiated automatically. Preferred features: The transducer couples sound from below, through the base comprising acoustically transparent membrane material. Coupling is by a plane parallel acoustic quarter wave transformer in the wall. A spherical acoustic lens set in the vessel wall couples the sound. A soft polymer section can be added to the transducer for coupling into the vessel. A liquid-containing coupling is filled with water or other sound-transmitting liquid. Sound is produced at 100 kHz, preferably 500 kHz-5 MHz. The transducer is piezoelectric, magnetostrictive and/or electrostrictive. Sound is focused into a definite sample volume, its location being adjustable with respect to a central filling level. The lens or spherically radiating surface are on the transducer. Several transducer elements are controlled in selective phase shifting, causing the required constructive and destructive interference for focusing. They form a regular two-dimensional array. A piezo-composite is employed, with piezoelectric elements embedded in a polymer matrix as a regular grid formation of rods, their axes normal to the grid plane. The transducer travels on an X-Y carriage for automatic treatment of many samples. The vessel is one of many (cells) in a micro titration plate. Sound coupling is effected through a fluid in the vessel wall. Samples are irradiated serially or in parallel,



**THIS PAGE BLANK** (USPTO)

with no relative motion between sample vessel  
and transducer.

---

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 198 20 466 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**G 01 N 1/28**  
G 01 N 33/50  
B 06 B 1/06  
B 06 B 3/00  
G 10 K 11/18

②① Aktenzeichen: 198 20 466.3  
②② Anmeldetag: 7. 5. 98  
④③ Offenlegungstag: 18. 11. 99

DE 198 20 466 A 1

⑦① Anmelder:  
Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der  
angewandten Forschung e.V., 80636 München, DE

⑦④ Vertreter:  
Rösler, U., Dipl.-Phys.Univ., Pat.-Anw., 81241  
München

⑦② Erfinder:  
Hahn, Thomas, 66386 St Ingbert, DE; Kleffner,  
Bernhard, Dr., 66271 Kleinblittersdorf, DE; Ruf,  
Hans, Dr., 66539 Neunkirchen, DE

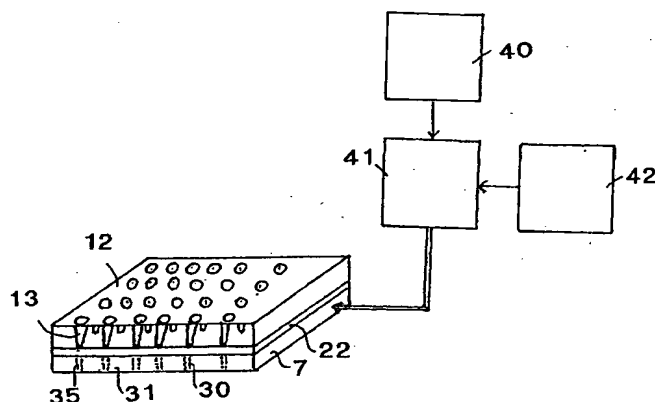
⑤⑥ Entgegenhaltungen:  
DE 32 09 841 C2  
DE 40 19 182 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Vorrichtung und Verfahren zur gezielten Beaufschlagung einer biologischen Probe mit Schallwellen

⑤⑦ Beschrieben wird eine Vorrichtung zur gezielten Beaufschlagung einer biologischen Probe, vorzugsweise biologisches Zellmaterial, mit Schallwellen, mit einem Probengefäß, in dem die biologische Probe in suspensierter Form vorliegt, sowie mit einer die Schallwellen erzeugenden elektroakustischen Wandlereinrichtung. Die Erfindung zeichnet sich dadurch aus, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung derart mit dem Probengefäß in Wirkverbindung steht, daß die Schallwelleneinkopplung in die Probe durch die Probengefäßwand hindurch erfolgt und die elektroakustische Wandlereinrichtung außerhalb des Probengefäßes angeordnet ist.



DE 198 20 466 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung zur gezielten Beaufschlagung einer biologischen Probe, vorzugsweise biologisches Zellmaterial oder Gewebeproben, mit Schallwellen mit einem Probengefäß, in dem die biologische Probe in suspendierter Form vorliegt, sowie mit einer die Schallwellen erzeugenden elektroakustischen Wandler-einrichtung.

Es sind eine Vielzahl von Anwendung akustischer Wellen in Form von Ultraschall-Leistungsschall zur Beeinflussung von Materialeigenschaften oder einer Materialstruktur bekannt. So werden zum Beispiel Ultraschall-Lithotriptoren zur Zertrümmerschall zur Wundreinigung und zur Phacoemulsification verwendet. Im nichtmedizinischen Bereich wird Ultraschall zum Beispiel zum Reinigen, Bohren, Fräsen und Schweißen eingesetzt.

Die Beaufschlagung biologischer Proben mit Ultraschall kann bestimmte biologische Effekte hervorrufen, wie zum Beispiel einen Zelltransport in Zellreaktoren, wobei die Vitalität der Zellen nicht beeinträchtigt wird, oder sogar die Zellen zerstören, wie es bei den oben genannten Lithotriptoren der Fall ist. Aufgrund der desintegrierenden Wirkung auf biologischer Strukturen haben Ultraschallmulsifikatoren eine erhebliche Bedeutung beim Probenaufschluß erlangt.

Derartige Ultraschallmulsifikatoren, sogenannte Sonotroden besitzen häufig Schnelle-Transformatoren, die an elektroakustische Wandler, wie zum Beispiel Langevinsche- oder Verbundschwinger, angeordnet sind. Die elektroakustischen Wandler weisen häufig eine Piezokeramik als aktives Material auf, wobei sie mit einer Amplitude von zum Beispiel 0,5  $\mu\text{m}$  schwingen. Mit Hilfe der Transformatoren wird die zunächst sehr kleine Amplitude auf zum Beispiel über 500  $\mu\text{m}$  vervielfacht.

Diese Ultraschallmulsifikatoren haben sich in der Praxis bewährt und werden häufig eingesetzt. Die Wirkung des von der Sonotrode auf die biologische Probe übertragenen Schalls hängt von der Schalldruckamplitude ab, die durch Interferenz mit an den Probenbehälter reflektierten Schallwellen räumlich stark variieren kann. Da die Temperatur und die Lage der Sonotroden spitze in der Probe Interferenzerscheinungen stark beeinflussen und bei einer Behandlung sich die Probe in der Regel erwärmt, ist es schwierig, Ultraschall zur gezielten Anregung biologischer Effekte exakt zu dosieren.

Ferner besteht durch das Eintauchen der Sonotrode in der Probe die Gefahr der Querkontamination, falls die Sonotrode beim Probenwechsel nicht mit der notwendigen Sorgfalt gereinigt wird.

Die herkömmliche Ausgestaltung der Beschallungseinrichtung verhindert nicht die Schaum- und Aerosolbildung, welche die Reproduzierbarkeit der Beschallung herabsetzen.

Da die Sonotroden aus elektroakustischen Gründen nicht beliebig klein gestaltet werden können, bestehen Grenzen in der Behandlung miniaturisierter Proben, wie sie z. B. beim Probenaufschluß für gentechnische Analysen gebraucht werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Beaufschlagung einer biologischen Probe, vorzugsweise biologisches Zellmaterial, mit Schallwellen zu schaffen, mit der zur gezielten Anregung biologischer Effekte eine exakte Dosierung der Schallwellen möglich ist.

Die Aufgabe wird durch eine Vorrichtung mit dem Merkmal des Anspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen angegeben.

Bei der erfindungsgemäßen Ultraschallvorrichtung steht

die elektroakustische Wandlereinrichtung derart mit dem Probengefäß in Wirkverbindung, daß die Schallwelleneinkopplung in die Probe durch die Probengefäßwand hindurch erfolgt und die elektroakustische Wandlereinrichtung außerhalb des Probengefäßes angeordnet ist. Da der Schall, nicht wie bei den herkömmlichen Ultraschallmulsifikatoren in der Probe von innen nach außen abgestrahlt wird, sondern von außen nach innen eingekoppelt wird, kann die Schallintensitätsverteilung auf den Bereich der Probe beschränkt werden, so daß in Verbindung mit einer höheren Mittenfrequenz die Einflüsse durch Interferenz der an den Probengefäßwandung reflektierten Schallwellen kontrolliert werden können. Dies erlaubt eine exakte Dosierung der Schallintensitäten und präzise Anregung von bestimmten biologischen Effekten.

In einer vorteilhaften Ausführungsform erfolgt die Schalleinkopplung durch den Probengefäßboden, so daß der überwiegende Teil der Schallwellen von unten nach oben fokussiert durch die Probe hindurchtritt und bei verminderter Reflexion an der Probengefäßwandung an der oberen Grenzschicht reflektiert wird. Dies ist eine überaus wirksame Anordnung zur Kontrolle störender Interferenzerscheinungen.

Zur Optimierung der Intensitätseinkopplung ist vorzugsweise ein planparalleler akustischer  $\lambda/4$ -Wellentransformator in der Probengefäßwandung vorgesehen.

Durch Einsetzen einer akustischen Linse in die Probengefäßwandung kann die Schallintensitätsverteilung auf einen vorbestimmten Bereich im Probengefäß konzentriert werden.

Vorzugsweise erfolgt die Schallwelleneinkopplung in das Probengefäß mittels Körperschall, indem ein weiches Polymerelement oder ein Fluid enthaltendes Koppellement zwischen der elektroakustischen Wandlereinrichtung und dem Probengefäß vorgesehen ist und mit beiden in unmittelbaren Kontakt steht oder einer Flüssigankopplung.

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform werden Schallwellen mit hohen Frequenzen von zumindest 100 kHz, vorzugsweise 500 kHz bis 5 MHz, verwendet, da derart hochfrequente Schallwellen auf kleinste Bereiche fokussiert werden können und deren räumliche Schallintensitätsverteilung exakt einflußbar ist. So ist es mit derart hochfrequenten Schallwellen möglich, den Bereich des maximalen Schalldruckes auf die Mitte des Probenvolumens zu fokussieren, wodurch ein Aufspritzen an der Oberfläche (Aerosolbildung) und damit eine Querkontamination zwischen benachbarten Proben vermieden wird.

Die erfindungsgemäße Schalleinkopplung an der Probengefäßwand mittels Körperschall ist zudem im wesentlichen verlustfrei, so daß bereits kleine Wandlereinrichtungen zur Schallerzeugung genügen. Da sie außerhalb des Probengefäßes angeordnet sind, können sie auch sehr einfach ausgebildet sein, um die für die Ultraschallbehandlung von biologischen Proben erforderliche Schallfrequenz bereitstellen zu können. Die erfindungsgemäße Ultraschallvorrichtung ist daher miniaturisierbar und kann zusammen mit Mikrotiterplattensystemen verwendet werden.

Die Schallwelleneinkopplung in die Probe durch die Probengefäßwand hindurch unterliegt keinen sich verändernden Parametern, wodurch sie exakt reproduzierbar ist. Eine exakte Reproduzierbarkeit der Schallwelleneinkopplung ist Voraussetzung für ein genaues Dosieren und eine automatisierte Probenabarbeitung, bei der das Probengefäß automatisch ausgewechselt beziehungsweise die in einem Probengefäß befindliche biologische Probe automatisch ausgetauscht wird.

Die Erfindung wird nachstehend ohne Beschränkung des allgemeinen Erfindungsgedankens anhand von Ausführungs-

rungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen exemplarisch beschrieben. Es zeigen:

**Fig. 1** eine erfindungsgemäße Ultraschallvorrichtung in perspektivischer Ansicht zusammen mit einer in der Art einer Explosionsdarstellung oberhalb der Ultraschallvorrichtung gezeigten Mikrotiterplatte,

**Fig. 2** eine elektroakustische Wandlereinrichtung, die bei der Ultraschallvorrichtung in **Fig. 1** eingesetzt ist, zusammen mit einem Schnitt durch ein Probengefäß der Mikrotiterplatte aus **Fig. 1**,

**Fig. 3** eine erfindungsgemäße Ultraschallvorrichtung mit einem piezoelektrischen Composite, einer elektronischen Steuereinrichtung und einer mehrere Probengefäße aufweisenden Mikrotiterplatte,

**Fig. 4a** und **4b** eine REM-Aufnahme eines piezoelektrischen Composites und eine schematische perspektivische Darstellung des Composites, und

**Fig. 5a** bis **5e** die Herstellungsschritte zur Herstellung eines piezoelektrischen Composites.

Ein erstes Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung zur gezielten Beaufschlagung einer biologischen Probe, vorzugsweise biologisches Zellmaterial, mit Schallwellen, ist in **Fig. 1** gezeigt.

Diese Vorrichtung weist eine ebenflächige Grundplatte **1** auf, die an zwei gegen überliegenden Seitenkanten jeweils mit einer Schiene **2** versehen ist. Auf den Schienen **2** ist eine Traverse **4** gelagert, die in Längsrichtung der Schiene **2** (Doppelpfeil **5**) verschiebbar ist und von einem Elektromotor (nicht dargestellt) zum Verschieben entlang der Schiene **2** angetrieben wird.

An der Traverse **4** ist eine elektroakustische Wandlereinrichtung **7** verschieblich angeordnet, die von einem weiteren Elektromotor (nicht dargestellt) entlang der Längsrichtung auf der Traverse **4** (Doppelpfeil **8**) hin und her verfahren werden kann.

An dem parallel zur Traverse **4** verlaufenden Seitenkanten der Grundplatte **1** sind Seitenwandungen **10** zur Aufnahme einer Mikrotiterplatte **12** vorgesehen. Die Mikrotiterplatte **12** ist eine Kunststoffplatte mit mehreren in einem regelmäßigen Raster angeordneten Ausnehmungen, die jeweils ein Probengefäß **13** zur Aufnahme chemischer und biologischer und insbesondere mikrobiologischer Proben bildet. Die Mikrotiterplatte **12** wird auf die erfindungsgemäße Vorrichtung aufgesetzt wobei sie von den Seitenwandungen **10** getragen wird. Die elektroakustische Wandlereinrichtung **7** ist in der Ebene der Grundplatte in x- und y-Richtung verfahrbar, so daß die elektromagnetische Wandlereinrichtung **7** unter allen Probengefäßen **13** der Mikrotiterplatte **12** angeordnet werden kann. Diese elektroakustische Wandlereinrichtung **7** ist in **Fig. 2** in der Seitenansicht dargestellt und weist einen etwa zylinderförmigen Körper **14** aus einem Schall gut übertragenden Material, wie zum Beispiel einem Polymer, auf, in dem ein elektroakustischer Wandler **15** eingebettet ist. Der elektroakustische Wandler **15** besteht vorzugsweise aus einem piezoelektrischen, magnetostriktiven und/oder elektrostriktiven Material, das elektromagnetische Wellen in Schallwellen wandeln kann.

Der den elektroakustischen Wandler **15** umschließende Körper **14** ist mittels einer Halterung **17** an der Traverse **4** verschieblich befestigt.

Es ist auch möglich die gesamte Vorrichtung mit Flüssigkeit zu füllen und dann auf Koppelkissen zu verzichten.

An der nach oben weisenden Stirnfläche des Körpers **14** ist eine akustische Linse **19** mit einer sphärischen Oberfläche **20** angeordnet. Mit Hilfe dieser akustischen Linse **19** werden die vom elektroakustischen Wandler **15** abgegebenen Schallwellen gebündelt, wodurch ein scharf fokussierter Ultraschallstrahl erhalten wird.

Etwa mittig auf der sphärischen Oberfläche **20** der akustischen Linse **19** ist ein Koppellement **22** zum Einkoppeln des Ultraschallstrahls in das Probengefäß **13** vorgesehen. Das Koppellement **22** besteht zum Beispiel aus einem weichen verlustfreien Polymer oder kann aus einem dünnwandigen mit einem zur Schallübertragung geeigneten Fluid gefüllten Kunststoffgefäß bestehen. Ein für die Übertragung von Schallwellen geeignetes Fluid ist zum Beispiel entgasstes Wasser.

Die Traverse **4** ist vorzugsweise mit einer Kippeinrichtung (nicht dargestellt) versehen, mit welcher der elektroakustische Wandler **15** mit dem Koppellement **22** angehoben und gegen das Probengefäß **13** gedrückt werden kann, wobei das Koppellement **22** unmittelbar am Gefäßboden **24** an liegt.

Die Mikrotiterplatten sind vorzugsweise aus Schall gut übertragenden Polymermaterialien, wie Polystyrol, Polypropylen oder Polyethylen ausgebildet, wobei die Kontaktbereiche der Gefäße **13** zur elektroakustischen Wandlereinrichtung **7** – im dargestellten Ausführungsbeispiel sind dies die Gefäßböden **24** – vorzugsweise membranartig ausgebildet sind, oder insbesondere planparallele akustische  $\lambda/4$ -Wellentransformatoren bilden. Es ist jedoch auch im Rahmen der Erfindung möglich, anstelle der in der elektroakustischen Wandlereinrichtung **7** angeordneten akustischen Linse **19** den Gefäßboden **24** des Probengefäßes **13** als akustische Linse mit sphärischer Oberfläche auszubilden.

Für die Erfindung ist wesentlich, daß die Schallwelleneinkopplung in die im Probengefäß **13** enthaltene Probe durch die Probengefäßwand hindurch erfolgt, so daß der Schall mittels Körperschall bei exakt definierten Zuständen eingekoppelt wird. Diese Einkopplung mittels Körperschall weist geringe Verluste auf, so daß bereits mit kleinen elektroakustischen Wandlern die zur Behandlung der Probenmaterialien notwendige Schallintensität bereitgestellt werden kann. Durch die Fokussierung mittels der akustischen Linse **19** werden die Schallwellen auf das Probenmaterial konzentriert, wodurch eine sehr effektive Ausnützung der Schallwellenenergie erfolgt. Zudem kommt die erfindungsgemäße elektroakustische Wandlereinrichtung **7** nicht mit dem Probenmaterial direkt in Kontakt so daß sie schnell zwischen einzelnen Probengefäßen **13** einer Mikrotiterplatte **12** verfahren werden kann, ohne daß hierbei die Gefahr einer Kontamination besteht. Da wegen der sehr wirksamen Einkopplung, die vom Wandler **15** erzeugten Intensitäten relativ klein sein können, kann der elektroakustische Wandler **15** miniaturisiert werden. Da der Wandler beim Einkoppeln nicht mit dem Probenmaterial in Kontakt kommt und deshalb ohne zusätzlichen Reinigungsvorgang schnell zwischen einzelnen Probengefäßen **13** verfahren werden kann, ist die erfindungsgemäße Ultraschallvorrichtung ideal für eine automatisierte Ultraschallbehandlung von einer Vielzahl von Proben geeignet.

Als Ultraschall wird vorzugsweise hochfrequenter Ultraschall mit einer Frequenz von zumindest mehr als 100 kHz und insbesondere 500 kHz bis 5 MHz verwendet, da hochfrequenter Schall auf kleinste Volumina fokussierbar ist, so daß selbst Probenvolumina von etwa 50  $\mu$ l separat beschallt werden können. Der maximale Schalldruck kann in die Mitte des Probenvolumens fokussiert werden, wodurch ein Aufspritzen an der Oberfläche (Aerosolbildung) und damit eine Querkontamination zwischen Probenmaterialien benachbarter Probengefäße **13** vermieden wird.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Ausführungsbeispiel einer Ultraschallvorrichtung zur gezielten Beaufschlagung einer biologischen Probe mit Schallwellen ist schematisch in den **Fig. 3** bis **5e** gezeigt. Diese Ultraschallvorrichtung weist als elektroakustische Wandlereinrichtung **7** ein sogenanntes

piezoelektrisches 1-3-Composite auf. Bei einem derartigen piezoelektrischen 1-3-Composite sind eine Vielzahl von Einzelschallwandler 30, die jeweils aus einem piezoelektrischen Stäbchen 35 ausgebildet sind, in einen regelmäßigen z. B. quadratischen Raster angeordnet, wobei ihre Längserstreckung senkrecht zur Rasterebene ausgerichtet ist. Diese Einzelschallwandler 30 sind zur gegenseitigen Isolation und zur Übertragung des erzeugten Schalles in einer Polymermatrix 31 eingebettet (Fig. 4a, 4b). Derartige Composites werden nach dem Dice und Fill-Verfahren hergestellt, wobei aus einem quaderförmigen Block aus piezoelektrischem Material zunächst planparallele Scheiben 33 auf einer Grundfläche 34 freigeschnitten werden (Fig. 5b), und in einem nächsten Arbeitsschritt die Scheiben 33 in Querrichtung zur ersten Schnitttrichtung zu auf der Grundfläche 34 stehenden Stäbchen 35 geschnitten werden. Diese Stäbchen 35 werden zusammen mit der Grundfläche 34 in die Polymermatrix 31 eingegossen (Fig. 5d). Schließlich wird die Grundfläche 34 beispielsweise durch Schleifen abgearbeitet, so daß lediglich die Stäbchen 35 als Einzelschallwandler 30 in der Polymermatrix 31 verbleiben und mit entsprechenden Kontaktelementen zur Beaufschlagung mit einem elektrischen Frequenzsignal verbunden werden. Es ist auch möglich, diese Elektrode in Form von Einzelelementen zu strukturieren (Ultraschallarray).

Eine elektrische Steuereinrichtung zur Ansteuerung der Einzelschallwandler 30 weist einen Frequenzgenerator 40 eine Phasenschiebereinrichtung 41 und eine Phasensteuereinrichtung 42 auf. Der Frequenzgenerator 40 erzeugt ein elektrisches Frequenzsignal mit einer Frequenz von vorzugsweise zumindest 100 kHz und insbesondere 500 kHz bis 5 MHz. Dieses Frequenzsignal wird in die Phasenschiebereinrichtung 41 eingespeist, die eine Vielzahl von einzelnen Phasenschiebern aufweist, mit welchen die Phase des einkommenden Frequenzsignals verändert werden kann, wobei die Phasenschiebereinrichtung 41 für einen jeden Einzelschallwandler 30 einen separaten Ausgang aufweist, so daß für jeden Einzelschallwandler 30 ein von den anderen Einzelschallwandlern 30 unabhängiges Phasensignal ausgegeben werden kann. Die einzelnen Phasenschieber werden von einer Phasensteuereinrichtung 42 gesteuert.

Durch die vorbestimmten Phasendifferenzen der einzelnen Einzelschallwandler 30 ergeben sich steuerbare konstruktive und destruktive Interferenzen der erzeugten Schallwellen, wodurch eine exakte Fokussierung ohne zusätzliche mechanische Fokussiermittel erzielt und eine sehr präzise dreidimensionale Intensitätsverteilung erhalten wird. Die Fokussierung kann zudem quasi beliebig schnell verändert werden. Vorzugsweise ist auf der elektroakustischen Wandlereinrichtung 7 ein dünnes, scheibchenförmiges Koppelement 22 aus einem weichen verlustfreien Polymer oder einem mit einem Fluid gefüllten Kunststoffkörper angeordnet. Bei Verwendung der in eine Polymermatrix 31 eingebetteten Einzelschallwandler 30 kann die Polymermatrix 31 selbst als Koppelement verwendet werden, das heißt, daß die einzelnen Probengefäße 13 unmittelbar auf die als Composite ausgebildete elektroakustische Wandlereinrichtung 7 aufgesetzt werden. Auch ein Fluid als Koppelement ist möglich.

Die elektronische Ansteuerung der in einem zweidimensionalen Array angeordneten Einzelschallwandler 30 erlaubt sowohl eine sequentielle als auch eine parallele Beschallung der einzelnen Probengefäße 13. Diese Array-Anordnung der Einzelschallwandler 30 ermöglicht auch eine weitergehende Miniaturisierung der Ultraschallvorrichtung mit idealen, beliebig einstellbar und schnell veränderlichen Intensitätsverteilungen, so daß selbst komplizierte Verfahren zur Beaufschlagung von Proben mit Ultraschallwellen ein-

fach, schnell und vor allem automatisch ausgeführt werden können.

Die piezoelektrischen Composites sind besonders vorteilhaft für die erfindungsgemäße Vorrichtung, da sie eine effektive, breitbandige Schallerzeugung und Einkopplung, eine einfache Weiterverarbeitung und eine weitreichende Einstellbarkeit der elektroakustischen Eigenschaften erlauben. Derartige Array-Anordnungen können jedoch auch in herkömmlicher Weise aus Piezokeramikelementen beziehungsweise Bleizirkonatantitanatelementen hergestellt werden, wobei die Elektronik zu deren Ansteuerung im wesentlichen die gleiche ist.

Ein wesentlicher Vorteil der Array-Anordnung liegt darin, daß eine Vielzahl von Proben, die sich in den Probengefäßen einer Mikrotiterplatte oder eines anderen Kartuschensystems befinden ohne einer Relativbewegung zwischen den Probengefäßen und der elektroakustischen Wandlereinrichtung gezielt mit Ultraschall sequentiell oder parallel oder in einer beliebigen anderen Reihenfolge beschallt werden können. Da keine Relativbewegung notwendig ist, müssen bei Behandlung mehrerer Proben die Probengefäße nicht bewegt werden, wodurch eine Querkontamination vermieden wird, und es nicht notwendig ist, die elektroakustische Wandlereinrichtung jedesmal von neuem mechanisch an ein Probengefäß anzukoppeln, was jeweils sehr sorgfältig erfolgen muß, um die gewünschten, reproduzierbaren Einkoppelzustände zu erhalten.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß die Erfindung ein exaktes, reproduzierbares Einkoppeln der Schallwellen in Probengefäße erlaubt, wodurch die in den Probengefäßen erzeugten Feldintensitäten exakt einstellbar und dosierbar sind. Hierdurch können spezielle chemische, biologische oder mikrobiologische Effekte in den Proben gezielt angeregt werden. Zudem können durch die gezielte Fokussierung auf kleinste Probenvolumina Interferenzeffekte verringert beziehungsweise vollständig vermieden werden.

#### Bezugszeichenliste

- 1 Grundplatte
- 2 Schiene
- 4 Traverse
- 5 Doppelpfeil
- 7 elektroakustische Wandlereinrichtung
- 8 Doppelpfeil
- 10 Seitenwandung
- 12 Mikrotiterplatte
- 13 Probengefäß
- 14 Körper
- 15 elektroakustischer Wandler
- 17 Halterung
- 19 akustische Linse
- 20 sphärische Oberfläche
- 22 Koppelement
- 24 Gefäßboden
- 30 Einzelschallwandler
- 31 Polymermatrix
- 33 Scheiben
- 34 Grundfläche
- 35 Stäbchen
- 40 Frequenzgenerator
- 41 Phasenschiebereinrichtung
- 42 Phasensteuereinrichtung

#### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur gezielten Beaufschlagung einer



biologischen Probe, vorzugsweise biologisches Zellmaterial, mit Schallwellen, mit einem Probengefäß (13), in dem die biologische Probe in suspendierter Form vorliegt, sowie mit einer die Schallwellen erzeugenden elektroakustischen Wandlereinrichtung (7), **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung (7) derart mit dem Probengefäß (13) in Wirkverbindung steht, daß die Schallwelleneinkopplung in die Probe durch die Probengefäßwand hindurch erfolgt und die elektroakustische Wandlereinrichtung (7) außerhalb des Probengefäßes (13) angeordnet ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung (7) unterhalb des Probengefäßbodens (24) vorgesehen ist und die Schallwelleneinkopplung durch den Probengefäßboden (24) erfolgt.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest der Probengefäßboden (24) aus akustisch geeigneten Materialien, wie Polystyrol, Polypropylen oder Polyethylen besteht.

4. Vorrichtung nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest der Probengefäßboden (24) membranartig ausgebildet ist.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß zur Schallwelleneinkopplung ein planparalleler akustischer  $\lambda/4$ -Wellentransformator in der Probengefäßwandung vorgesehen ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß zur Schallwelleneinkopplung eine sphärische akustische Linse in die Probengefäßwandung eingesetzt ist.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Schallwelleneinkopplung an das Probengefäß (13) ein weiches Polymerelement an der elektroakustischen Wandlereinrichtung ansetzbar ist.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Schallwelleneinkopplung an das Probengefäß (13) ein Fluid enthaltendes Kopelement (22) an der elektroakustischen Wandlereinrichtung (7) ansetzbar ist.

9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Fluid des Kopelements (22) entgastes Wasser oder eine andere Flüssigkeit, die Schall überträgt, ist.

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung Schallwellen mit einer Frequenz von zumindest 100 kHz, vorzugsweise von 500 kHz bis 5 MHz, erzeugt.

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung einen aus einem piezoelektrischen, magnetostruktiven und/oder elektrostruktiven Material ausgebildeten elektroakustischen Wandler (15; 30) aufweist.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß Mittel zum Fokussieren der Schallwellen auf ein bestimmtes Probenvolumen vorgesehen sind.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zum Fokussieren derart ausgebildet sind, daß die Schallwellen begrenzt in dem Probenvolumen fokussierbar sind, das innerhalb des Probengefäßes (13) mit Abstand zu einer mittleren Füllstandshöhe justierbar ist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 12 oder 13, dadurch

gekennzeichnet, daß die Mittel zum Fokussieren eine akustische Linse (19) oder eine sphärische Abstrahlfläche an der elektroakustischen Wandlereinrichtung (7) vorsehen.

15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung (7) mehrere elektroakustische Wandlerelemente (30) aufweist, wobei als Mittel zur Fokussierung eine Steuereinrichtung vorgesehen ist, die derart ausgebildet ist, daß die Wandlerelemente (30) mit vorbestimmten Phasendifferenzen angesteuert werden, so daß sich aufgrund von konstruktiver und destruktiver Interferenzen der erzeugten Schallwellen eine vorbestimmte Fokussierung ergibt.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Wandlerelemente (30) in einer 2-dimensionalen Anordnung regelmäßig verteilt angeordnet sind.

17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Wandlereinrichtung (7) aus einem Piezokomposit (30, 31) ausgebildet ist, das als Wandlerelemente (30) mehrere in einer Polymermatrix (31) eingebettete Piezoelemente (30) aufweist.

18. Vorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Piezoelemente (30) stäbchenförmig ausgebildet und in einem regelmäßigen Raster in der Matrix (31) angeordnet sind.

19. Vorrichtung nach Anspruch 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Piezoelemente (30) matrixartig angeordnet sind, wobei die stäbchenförmigen Piezoelemente (30) mit ihren Längsachsen senkrecht zur Gitterebene ausgerichtet sind.

20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß die elektroakustische Wandlereinrichtung (7) zur automatischen Behandlung mehrerer Proben an einem X-Y-Schlitten angeordnet ist, der in einer Ebene verfahrbar ist.

21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß das Probengefäß (13) Bestandteil einer Mikrotiterplatte mit einer Vielzahl von Probengefäßen (13) ist.

22. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Schalleinkopplung vom Wandler durch ein Fluid in die Probengefäßwand erfolgt.

23. Verfahren zur Behandlung biologischer Proben mittels Schallwellen mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Proben automatisch beschallt werden.

24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß eine Vorrichtung nach den Ansprüchen 1 bis 12 mit ihrer elektroakustischen Wandlereinrichtung an eine Probengefäßanordnung mit mehreren Probengefäßen gekoppelt wird, und die in den Probengefäßen befindlichen Proben ohne einer Relativbewegung zwischen der Probengefäßanordnung und der Wandlereinrichtung seriell oder parallel beschallt werden.

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

---

Fig. 2

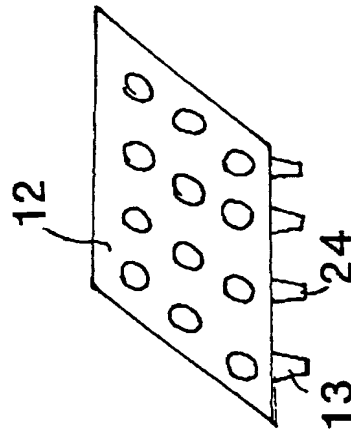
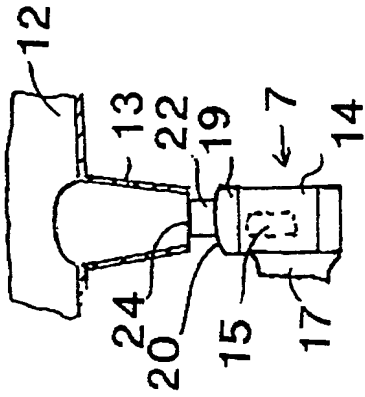
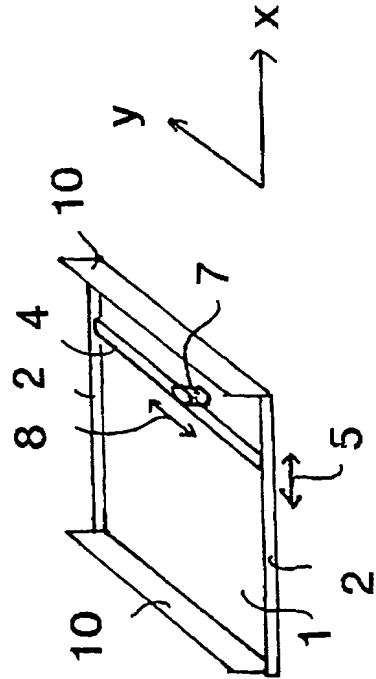


Fig. 1



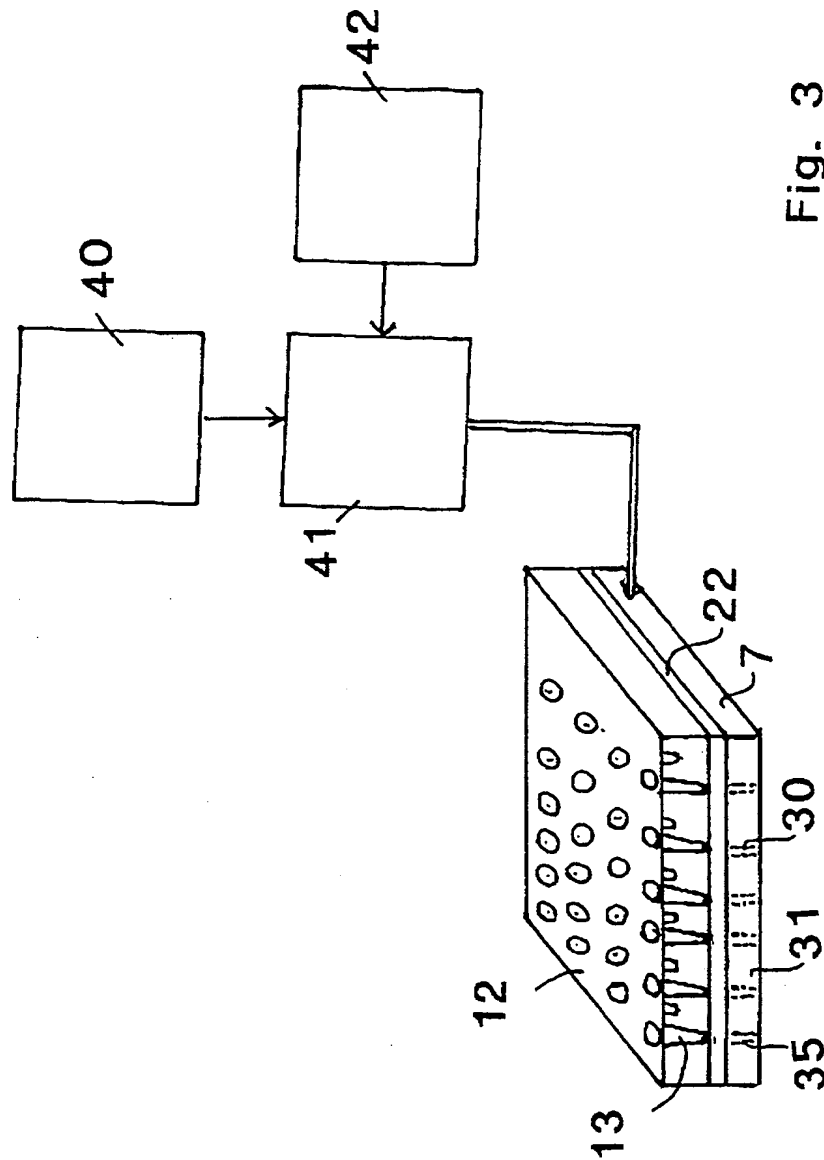
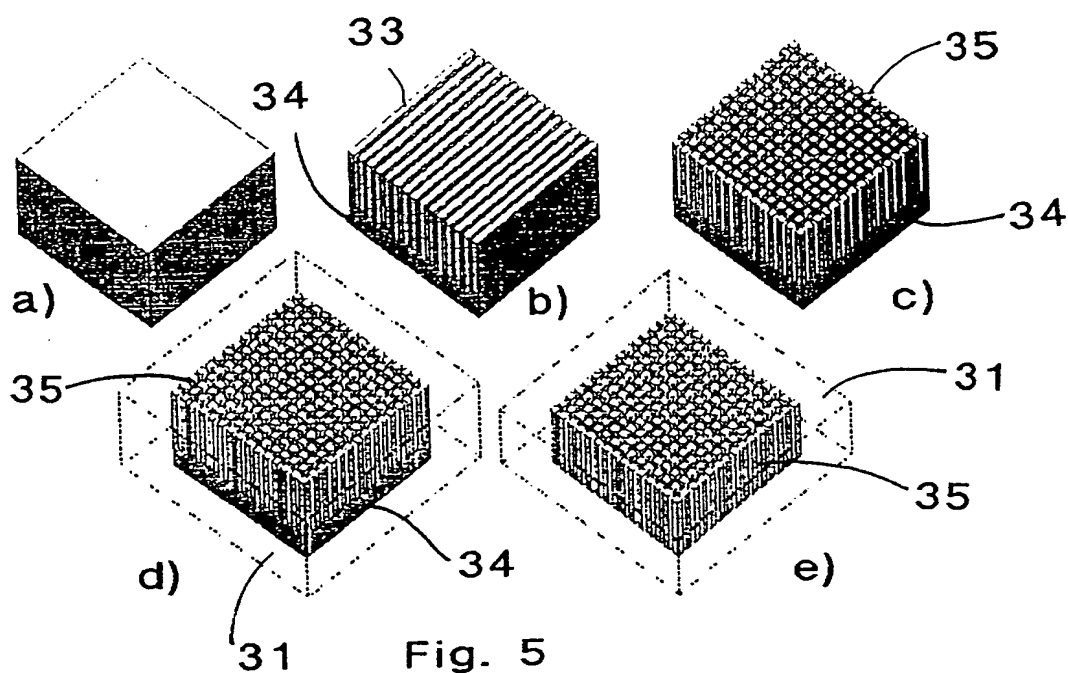
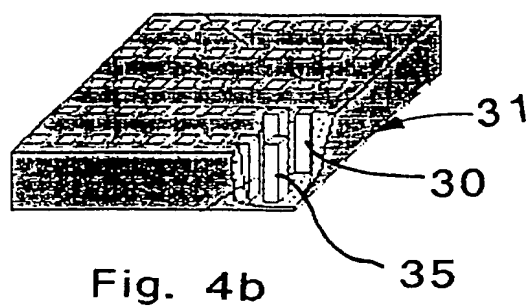
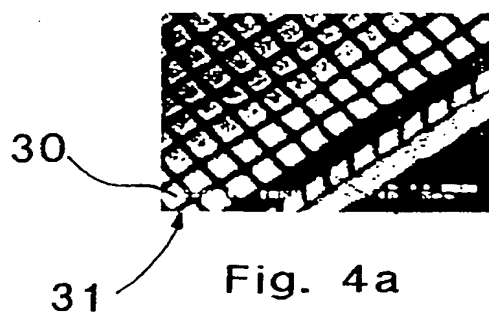


Fig. 3



BEST AVAILABLE COPY